Tome 73, fascicule 2 (Hommage à Jakob Seiler), nº 15. — Mai 1966

Experimenteller Nachweis der Beeinflussung des Elektrocardiogramms (EKG) dekapoder Krebse (*Astacus fluviatilis* F., *Astacus leptodactylus* E., *Carcinus maenas* L.) durch optische Reize*

(Opto-cardialer Hemmreflex)

von

H. MISLIN

Institut für Physiologische Zoologie, Univ. Mainz

Mit 9 Textabbildungen

Bekanntlich unterscheidet sich das Dekapodenherz durch mehrere physiologische Eigenschaften vom Wirbeltierherzen: Es folgt nicht dem Alles- oder Nichts-Gesetz, es ist tetanisierbar und geht, wenn isoliert, allmählich in systolischen Stillstand über; Acetylcholin bewirkt Frequenzsteigerung und verstärkt die Amplitude; gleichsinnig wirken auch Adrenalin und gewisse körpereigene Substanzen (Augenstielextrakt, Pericardialorganextrakt). Das Dekapodenherz ist an fünf ligamentösen Muskelzügen am Pericard aufgehängt. Letzteres ist mit Blut gefüllt und sicher kein mit dem Wirbeltierpericard vergleichbarer cölomatischer Raum. Die Wirkung des Füllungsdruckes auf die Herztätigkeit ist wesentlich geringer als beim Wirbeltierherzen. Die Herzwand besteht aus einem Syncytium quergestreifter Muskelfasern, und das Herz

* Herrn Prof. Dr. J. Seiler zum 80. Geburtstag.

hat eine neurogene Automatie. Nachdem es schon früher verschiedenen Autoren gelungen war, offenbar über regulierende Herznerven, mit diversen Reizen eine Verlangsamung bzw. Beschleunigung der Herzfrequenz herbeizuführen, sollte geprüft werden, ob auch Sinnesreize einen entsprechenden Einfluss auf die Herzaktivität und im besonderen auf das EKG haben können.

INNERVATIONSVERHÄLTNISSE

Das Dekapodenherz besitzt ein komplexes Nervensystem aus grösseren und kleineren Ganglienzellen. Florey (1960) hat nachgewiesen, dass 4 kleinere Ganglienzellen rhythmisch 5 grosse Motoneuronen, welche direkt auf den Herzmuskel einwirken, stimmulieren. Bei *Palinurus japonicus* hat Matsui (1959) am isolierten Herzgangliensystem Spontanrhythmen festgestellt. Ebenfalls sind vom Unterschlundganglion zum Herzen ziehende fördernde und hemmende Nervenfasern nachgewiesen worden. Herzreflexe, die auf die Wirkung der hemmenden Herznerven zu beziehen sein dürften, sind bei den dekapoden Krebsen schon sehr lange bekannt. Es gelang verschiedenen Autoren, durch mechanische, thermische oder auch chemische Reize diastolischen Herzstillstand herbeizuführen. Der Hemmreflex wurde durch Beklopfen des Rückenpanzers, Abschneiden einer Extremität, Berühren mit Heizdraht oder Aetzen mit Säure, am sichersten bei gesunden und kräftigen Tieren, erzielt. Der Herzstillstand kann Sekunden oder mehrere Minuten andauern. Die Dauer des Stillstandes war abhängig von der Erregbarkeit des Krebses und der Reizstärke. Bei gleichzeitiger elektrischer Reizung beschleunigender und hemmender Nervenfasern fand Florey, dass der hemmende Nerv in der Regel der überlegene war. Für eine Herzbeschleunigung, die ebenfalls reflektorisch zu erzielen war, ermittelten bereits Jolyet und Viallanes (1893) eine Reihe wirksamer Reize: Hochheben eines Panzerstückchens von der Hypodermis, schwache faradische Reizung der Magenwand, Betupfen der Oberlippe mit Säuren. Es ist aber zweifellos bedeutend schwieriger, auf reflektorischem Weg eine Herzbeschleunigung als eine Hemmung hervorzurufen. Es ergibt sich somit, dass der hemmende Zügel der regulierenden Herznerven bei den Dekapoden über den accelerierenden dominiert.

Alle diese Versuch sind aber an gefesselten, immobilisierten und narkotisierten Tieren ausgeführt worden. Es schien mir darum von besonderem Interesse, eine Methode zu entwickeln, die es erlaubt, vom völlig freibeweglichen Tier das Elektrocardiogramm (EKG) unmittelbar vom Herzen abzuleiten.

METHODISCHES

Zur Ableitung des Ekg wird der dorsale Carapax im hinteren Cephalothoraxdrittel, unmittelbar über dem Herzen (Cardiaregion), mit einem Metallbohrer von Hand gelocht. Die Hypo-

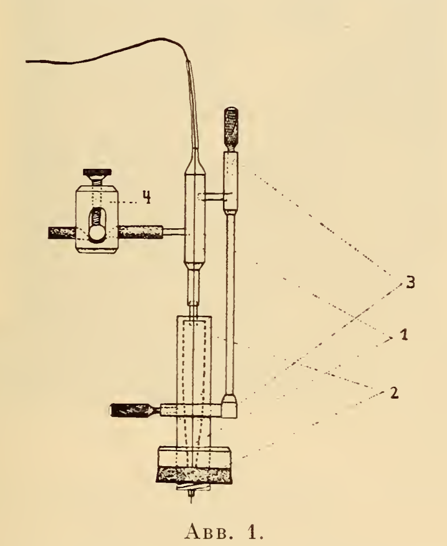


Abb. 1.

Pt-Aspirationselektrode (1) mit Elektrodenhalterung (2, 3) und Schlauchklemme (4) aus Resalglas zur Montage an der Cardiaregion des Carapax am freibeweglichen Krebs.

dermis soll dabei nicht verletzt werden. In das Loch von d 5 mm wird als Elektrodenhalterung ein Resalglasrohr mit Gewinde eingeschraubt (Abb. 1 (2)). Zur Stabilisierung und völligen Abdichtung wird ein Gummiring des Resalglasrohrs dem Panzer aufgepresst. Als Ableitelektrode wird wiederum eine Pt-Aspirationselektrode (1) verwendet. Sie wird an ihrem oberen Abschnitt an einem Resalglasstab fixiert (3), der an seiner Basis einem Resal-

glasring aufsitzt. Dieser Halterring (3) hat eine äussere Führung am im Carapax festsitzenden Rohr und erlaubt eine beliebige Verschiebung der Elektrode nach oben und nach unten. Der Ring



ABB. 2.

*Astacus lept.*L. mit implantierter Aspirationselektrode, frei beweglich.

wird am Rohr zur Aspiration festgeschraubt. Der Pt-Draht der Elektrode verläuft in einem besonders feinen PVC-Schlauch. Zur Ansaugung wird die Hypodermis durch schraubige Bewegungen lokal durchstochen und der Aspirationsschlauch nur wenige mm zum Herzen vorgetrieben. Die Ableitung des Aktionsstroms erfolgt auch mit dieser modifizierten Elektrode, wie früher beschrieben (MISLIN 1963 [1]). Das Ableitkabel wird nach oben geführt und über dem Tier so fixiert, dass seine völlige Bewegungsfreiheit garantiert ist. Die Krebse sind bei diesen Untersuchungen vollständig im Wasser untergetaucht. Eingriff und Montage der Elktrodenhalter-

ung wird von den Versuchstieren auffallend gut vertragen. Einzelne Astacus-Exemplare wurden mit der am Carapax montierten Elektrodenhalterung mehrere Monate im Versuch gehalten (Abb. 2).

VERSUCHSERGEBNISSE

Vorversuche ergaben, dass *Astacus fluviatilis*, *Astacus leptodactylus* und *Carcinus maenas* auf feines Anspritzen mittels einer

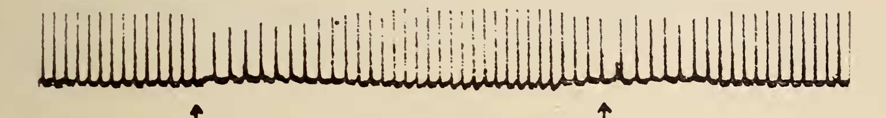


Abb. 3.

Vibrationsreiz, Ausschnittsvergrösserung Herz in situ, EKG: *Astacus lept.*L., 18 bis 20° 1 C.

Pipette in der Regel mit typischen Änderungen der Herzaktionsströme reagieren. Es wird eine negativ chronotrope wie auch negativ inotrope Wirkung beobachtet. Dabei ist auch häufig kurz-

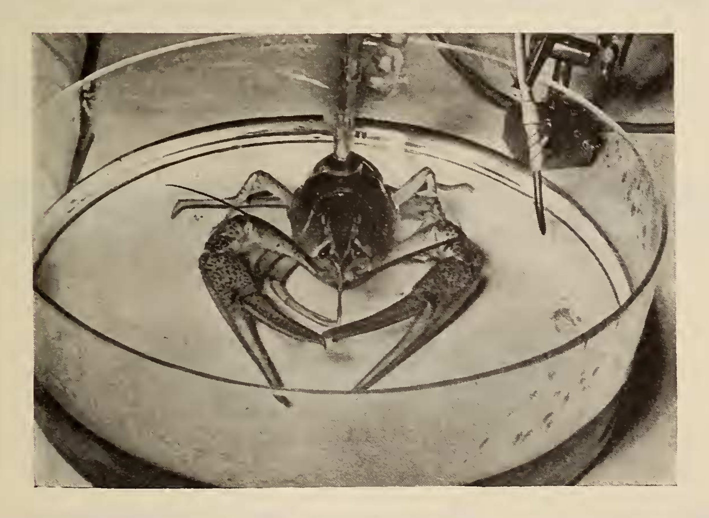


Abb. 4.

Astacus leptodactylus mit typischer Scherenhaltung bei Vibrationsreiz. Rechts im Versuchsgefäss eingetaucht die indifferente Elektrode.

fristiger Herzstillstand aufgetreten. Ähnliche Effekte werden durch rasche Berührungsreize (Augenstiele, Scheren, Antennen und Carapax) erzielt. Die häufigsten Reaktionen wurden bei Augenstielberührung (85%) und bei Scherenberührung (78%) erhalten. Bei Antennenberührung lagen die positiven Werte wesentlich niedriger (33%). Ähnliche Reaktionen traten auch bei Erschütterungsreizen auf. Leichtes Anschlagen des Versuchsgefässes, in welchem sich die Krebse frei bewegen konnten (Abb. 3), ergab ebenfalls auffallend häufig Reizerfolg (80%). Gleichzeitig zeigte *Astacus leptodactylus* auf derartige Vibrationsreize typische Abwehrstellungen mit Aufrichten des Vorderkörpers und Scherenöffnen (Abb. 4).

OPTISCHE REIZE

1. *Bewegungssehen:* Wird ein Gegenstand in ca. 20 cm Entfernung vor den Augen des Krebses vorbeigeführt, so treten die oben erwähnten Herzaktionen besonders häufig auf. Die Tiere

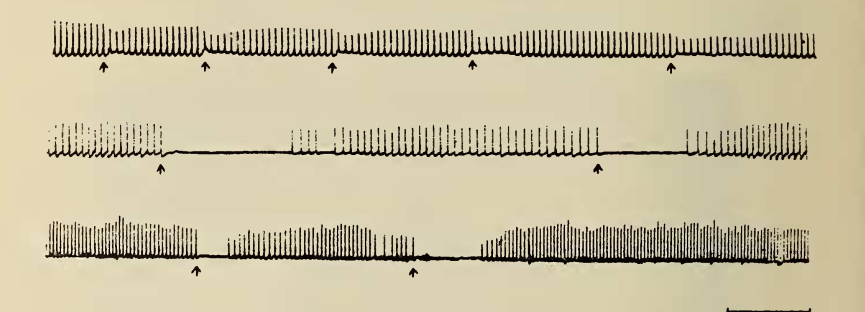


Abb. 5.

Bewegungssehen (helladaptiert)
obere Kurve: *Astacus leptodactylus* L.
mittlere Kurve: *Astacus fluviatilis* F.
untere Kurve: *Carcinus maenas*
Herz in situ, EKG, 18 bis 20° C.

reagieren meistens, ohne äussere Bewegungserscheinungen erkennen zu lassen, mit kurzfristiger Abnahme der Frequenz und Amplitude am EKG (Abb. 5). Nach etwa 8-9 Spikes ist die ursprüngliche Potentialhöhe wieder erreicht, während die Frequenz sich

bereits nach 4-5 Spikes normalisiert hat. Die Pfeile auf den Kurvenbeispielen signalisieren den Beginn der Bewegung des Reizobjektes. Hell- oder dunkeladaptierte Tiere (jeweils mehrere Tage) zeigen



Abb. 6.

Obere Kurve: Bewegungssehen, helladaptiert
untere Kurve: Bewegungssehen, dunkeladaptiert
Herz in situ, EKG: *Astacus lept.* L., 18 bis 20° C.

auf Bewegungssehen keine wesentlichen Unterschiede. Von Helladaptierten zeigen 54%, von Dunkeladaptierten 58% die erwähnten Änderungen am EKG. Signifikante Unterschiede bestehen also in den beiden Versuchsgruppen nicht. Hingegen zeigen dunkeladaptierte Krebse in fast verdunkeltem Raum nur in 32% der untersuchten Fälle eine Frequenz- und Amplitudenabnahme (Abb. 6 und 7).

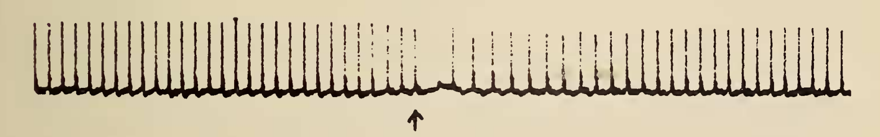


Abb. 7.

Bewegungssehen, Ausschnittsvergrösserung, helladaptiert
Herz in situ, EKG: *Astacus lept.* L., 18 bis 20° C.

2. *Lichtreiz*

a) weisses Licht: Durch Lichtreize von einem Elektronenblitzgerät (Braun Hobby Automatic) wird das EKG des Flusskrebses ähnlich wie durch Bewegungssehen beeinflusst. Das verwendete Reizgerät hat eine Blitzarbeit von 165 Ws, pro Einzelblitz beträgt

die Lichtmenge ca. 5600 lms. Die Abstände vom Versuchstier bis zum Reflektor lagen zwischen 10 und 40 cm. Als günstigster Neigungswinkel Reflektor/Tier erwies sich 45°. Der Krebs wurde jeweils direkt von vorne angeblitzt, wobei die Reflektorstellung

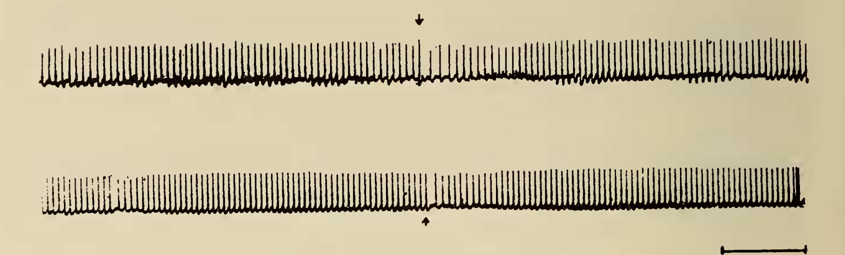


Abb. 8.

Belichtungsreiz
obere Kurve: helladaptiert
untere Kurve: dunkeladaptiert
Herz in situ, EKG: *Astacus lept.* L., 18 bis 20° C.

in der Ebene des Versuchstiers lag. Im sichtbaren Bereich hat der verwendete Elektronenblitz ein Spektrum von 300 bis 700 nm mit einem Maximum bei ca. 450 nm. Helladaptierte Krebse reagierten in 65% der abgegebenen Blitzreize bei Tageslicht, während sie im verdunkelten Raum in 80% den Effekt zeigten. Dunkeladaptierte Tiere reagierten im hellen Raum in 30%, im dunklen Raum in 84% auf die Lichtreize (Abb. 8).

b) Farbiges Licht: Bei den folgenden Farbfilterversuchen werden die Filter unmittelbar vor dem Reflektor angebracht.
Gelbfilter: 576 nm, T max 44%, HBW 10 nm, ZM 18 nm.

Von helladaptierten Krebsen zeigten 29% und von dunkeladaptierten 40% den Hemmerfolg. Die Werte für Gelbfilterversuche im dunklen Raum adaptierter Tiere lagen bei 32%.
Rotfilter: 652 nm, T max 51%, HBW 12 nm, ZW 36 nm.

Helladaptierte Tiere reagierten in 22%, dunkeladaptierte in 38%. Bei gelb- und blauadaptierten Krebsen reagierten 20%.
Blaufilter: 487 nm, T max 25%, HBW 22 nm, ZW 10 nm.

Helladaptierte Tiere zeigten in 10%, dunkeladaptierte in 59% und farbadaptierte in 10% die Hemmreaktion. In dieser Versuchsserie fiel auf, dass helladaptierte Krebse bei Tageslicht,

ebenso aber auch dunkeladaptierte Krebse im verdunkelten Raum prozentual die bei weitem höchsten positiven Reaktionen ergaben (Abb. 9).

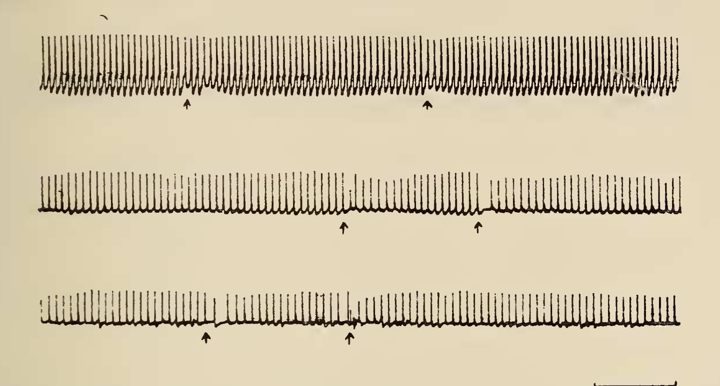


Abb. 9.

Belichtungsreize
obere Kurve: Gelbfilter
mittlere Kurve: Rotfilter
untere Kurve: Blaufilter
Herz in situ, EKG: *Astacus lept.* L., 18 bis 20° C.
Der Massstab auf den Abbildungen 5, 6, 8 und 9 stellt eine Zeitmarkierung von 10 sec dar.

c) Lichtintensität:

Graufilter: Für die Lichtdurchlässigkeit lagen die Grauwerte bei 1, 1,5 und 2. D. h., das mittlere Graufilter entsprach in seiner Lichtdurchlässigkeit dem verwendeten Gelbfilter, wenn man die Empfindlichkeit des menschlichen Auges der Versuchsanordnung zu Grunde legte. Helladaptierte Tiere zeigten bei Graufilter 1 in 33% positive Reaktionen, bei 1,5 41% und bei 2 27%. Dunkeladaptierte Tiere ergaben bei gleicher Filterreihenfolge in 38%, 20% und 20% den Hemmeffekt.

d) Schwingungsebene des Lichts:

Als Polarisationsfilter wurde eine linear polarisierende Folie mit 38% Durchlässigkeit für unpolarisiertes Licht (HN 38 der Firma E. Käsemann) verwendet. Als Nullebene wurde die Horizontale in Bezug auf das Versuchstier angesehen. Der Neigungs-

winkel wurde jeweils um 45° von 0° bis 180° variiert. Die folgende Tabelle stellt die gefundenen Werte für *Astacus leptodactylus* zusammen. Es ergibt sich, dass die Veränderung des EKG nach Belichtungsreizen mit polarisiertem Licht keinerlei Unterschiede zu den anderen von uns untersuchten Lichtreizen zeigt.

Lichtreiz durch Polarisationsfilter bei *Astacus leptodactylus.*

Neigungswinkel	helladaptiert	dunkeladaptiert
0°	59%	46%
45°	60%	92%
90°	50%	64%
135°	59%	80%

Abschliessend sei noch erwähnt, dass es uns nicht gelungen war, mit UV-Lichtreizen einen Einfluss auf die Herzaktivität (EKG) zu erzielen.

BESPRECHUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Zunächst sei nochmals festgehalten, dass der Herzschlag bei Crustaceen durch sehr verschiedene interne und externe Milieufaktoren beeinflusst werden kann: Bei Dekapoden sind die allgemeine Aktivität, Bewegungen der Extremitäten, Körpergrösse und Alter, anorganische Jonen, verschiedene Pharmaka, Temperatur und Licht geprüft worden. Bei den Untersuchungen an intakten Krebsen ist die Unterscheidung zwischen einem direkten und einem indirekten Effekt auf den Schrittmachermechanismus des Herzens oft recht schwierig. Einige Faktoren, wie zum Beispiel die allgemeine Aktivität oder auch die Belichtung, können indirekt über die normalen Herzregulatoren wirken. Man weiss schon länger, dass dunkeladaptierte Daphnien bei plötzlicher Belichtung mit einer vorübergehenden Abnahme der Herzfrequenz reagieren (SCHULZ 1928 [2]). Helladaptierte Daphnien antworten auf Beschattung hingegen mit vorübergehender Erhöhung der Frequenz. Unterschiede in der Herzfrequenz zwischen normalen, nichtgereizten Dunkeltieren und Helladaptierten zeigen, dass zusätzlich zu dem vorausgehenden kurzfristigen Effekt, ein überdauernder nicht adapt-

tierter Lichteffekt kommt. Lokalisierte Belichtungsversuche und vor allem die Blendungsexperimente bewiesen, dass bei diesen niederen Krebsen weder Komplexaugen noch Naupliusaugen mit der vorübergehenden Lichtreaktion etwas zu tun haben. Bei der Transparenz dieser Tiere muss man daran denken, dass die Herzaktion hier über Bluthormone, welche eigentliche Sinnesreize überlagern, verursacht wird (Hara 1952 [3]). Unsere Experimente an dekapoden Krebsen zeigen aber eindeutig, dass die optische Beeinflussung der Herztätigkeit bzw. des Elektrocardiogramms direkt über das Krebsauge erfolgt. Geblendete Tiere zeigen die Reaktion der Frequenz- und Amplitudenabnahme am EKG nicht mehr. Es ist auch hervorzuheben, dass bei der Reaktivität des Herzens grosse individuelle Unterschiede bestehen und dass auch ein und derselbe Krebs, offenbar in Abhängigkeit von einer gerade bestehenden Reizbarkeit bzw. Erregbarkeit, verschieden reagieren kann. Dies zeigt sich besonders deutlich bei den Reaktionen auf Bewegungssehen. Einzelne *Astacus leptodactylus* reagieren praktisch regelmässig auf solche optischen Reize mit dem Hemmreflex, andere nur auffallend selten. Die Unterschiede, die wir in Farb- und Graufilterexperimenten, sowohl bei hell- wie dunkeladaptierten Krebsen gefunden haben, erlauben — beim gegenwärtigen Stand der Forschung — noch keine Interpretation. Dazu sind unsere Kenntnisse über den Farbensinn dieser Formen noch ungenügend. Wir besitzen noch keine exakten Messwerte, die in Beziehung zu unseren Ergebnissen mit Lichtreizen gebracht werden könnten. Dies aber wäre die Voraussetzung für ein sinnesphysiologisches Verständnis unserer Versuchsergebnisse. Mit Sicherheit können wir vorerst nur feststellen, dass über diverse Lichtreize ein opto-cardialer Hemmreflex auslösbar ist. Derselbe tritt nach dem Reiz sehr rasch auf. Er ist im Mittel bereits 750 msec nach dem Reizbeginn am EKG festzustellen. Der durch einen Lichtreiz hervorgerufene opto-cardiale Reflex dürfte sein Zentrum im Unterschlundganglion haben. Auf der efferenten Seite geht die Erregung über die Retinulazellen zum optischen Ganglion und übers Gehirn ins Unterschlundganglion. Auf der efferenten Seite vom Unterschlundganglion über die hemmenden Fasern, die über die accelerierenden dominierend sind, zum Herzmuskel und führen dort zu den beschriebenen Veränderungen am EKG oder zu vorübergehendem Herzstillstand, der bis zu 15 sec andauern kann.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei dekapoden Krebsen bewirken diverse kurzfristige Lichtreize Veränderungen am EKG: Frequenz- und Amplitudenabnahme sowie auch Herzstillstand. Ein opto-cardialer Herzhemmreflex wird nachgewiesen.

SUMMARY

In Decapoda different brief light stimuli influence the EKG: Diminution of frequency and potential amplitude, even the ceasing of pulsation. An opto-cardio heart reflex is shown.

RÉSUMÉ

Chez les Décapodes, diverses excitations lumineuses de courte durée provoquent des modifications caractéristiques de l'électrocardiogramme: diminution de la fréquence et de l'amplitude, voire même arrêt du cœur. Un réflexe optocardiaque est démontré.

LITERATUR

Mislin, H. 1963. *Zur Funktionsanalyse des Hilfsherzens* (Vena portae) *der weissen Maus* (Mus musculus f.alba). Rev. suisse Zool. 70: 317-331.

Schulz, F. N. 1928. *Über die Bedeutung des Lichts im Leben niederer Krebse.* Z. vergl. Physiologie 7: 488-552.

Hara, J. 1952. *On the hormones regulating the frequency of the heart beat in the shrimp, Paratya compressa.* Annot. Zool. Japan. 25: 162-171.

Der deutschen Forschungsgemeinschaft verdanke ich die apparative Unterstützung und meiner Mitarbeiterin Frl.R.Krause die hervorragende technische Assistenz.